



## AVANCES EN LAS TÉCNICAS PARA EL DIAGNÓSTICO DE MALARIA CAUSADA POR *Plasmodium spp*

### ADVANCES IN TECHNIQUES FOR THE DIAGNOSIS OF MALARIA CAUSED BY *Plasmodium spp*

Lisbeth Mireya Coello Troncoso <sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Carrera de Laboratorio Clínico, Facultad Ciencias de la Salud, Universidad Técnica de Ambato, Ecuador.  
ORCID: <https://orcid.org/0009-0000-9735-6166>. Correo: [lcoello2161@uta.edu.ec](mailto:lcoello2161@uta.edu.ec)

Ana Verónica De la Torre Fiallos <sup>2</sup>

<sup>2</sup> Carrera de Laboratorio Clínico, Facultad Ciencias de la Salud, Universidad Técnica de Ambato, Ecuador.  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8668-1518>. Correo: [anavdelatorre@uta.edu.ec](mailto:anavdelatorre@uta.edu.ec)

\* Autor para correspondencia: [lcoello2161@uta.edu.ec](mailto:lcoello2161@uta.edu.ec)

#### Resumen

Este artículo de revisión bibliográfica analiza los avances en el diagnóstico de la malaria, enfocándose en métodos recientes aplicados en regiones endémicas para detectar especies del género *Plasmodium spp*. Entre las innovaciones más destacadas se encuentra la reacción en cadena de la polimerasa digital en gotas (ddPCR), que permite la cuantificación precisa del ADN de *Plasmodium* en comparación con la PCR en tiempo real, aunque con limitaciones en especificidad. Además, la amplificación isotérmica mediada por bucle (LAMP) ha demostrado ser útil para el diagnóstico rápido de *P. vivax* y *P. ovale*, mientras que los enfoques serológicos como PvSeroTAT están siendo aplicados en Brasil para identificar y tratar infecciones asintomáticas, reduciendo así la transmisión. La PCR en tiempo real y técnicas como PCR-HRM hexaplex han mejorado la capacidad de diferenciar especies y detectar infecciones submicroscópicas. Estos avances representan pasos importantes hacia diagnósticos más precisos y rápidos, fundamentales para la eliminación de la malaria.

**Palabras clave:** *Plasmodium spp*; malaria; PCR; LAMP; pruebas de diagnóstico rápido

#### Abstract

This bibliographic review article analyzes advancements in malaria diagnosis, focusing on recent methods applied in endemic regions to detect species of the genus *Plasmodium spp*. Among the most notable innovations is droplet digital polymerase chain reaction (ddPCR), which enables precise quantification of *Plasmodium* DNA compared to real-time PCR, although with some limitations in specificity. Additionally, loop-mediated isothermal amplification (LAMP) has proven useful for the rapid diagnosis of *P. vivax* and *P.*



Esta obra está bajo una licencia Creative Commons de tipo (CC-BY-NC-SA).

Sociedad Ecuatoriana de Investigación Científica. E-mail: [revistabiosana@gmail.com](mailto:revistabiosana@gmail.com)



*ovale*, while serological approaches like PvSeroTAT are being implemented in Brazil to identify and treat asymptomatic infections, thus reducing transmission. Real-time PCR and techniques such as hexaplex PCR-HRM have improved the ability to differentiate species and detect submicroscopic infections. These advancements represent significant steps toward more accurate and faster diagnostics, essential for malaria elimination.

**Keywords:** *Plasmodium spp*; malaria; PCR; LAMP; rapid diagnostic tests

**Fecha de recibido:** 07/09/2024

**Fecha de aceptado:** 24/11/2024

**Fecha de publicado:** 26/11/2024

## Introducción

La malaria, causada por parásitos del género *Plasmodium*, es una de las enfermedades más prevalentes y mortales a nivel mundial, afectando principalmente a regiones tropicales y subtropicales. A pesar de los esfuerzos internacionales para su control y eventual erradicación, en 2023 se reportaron más de 240 millones de casos en todo el mundo, teniendo como tasa de mortalidad a nivel mundial del 0.3 y 2.2 % (1). La malaria es transmitida por mosquitos del género *Anopheles*, y entre las especies de *Plasmodium* que infectan a humanos se encuentran: *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae* y *P. knowlesi* (2).

A nivel global, el diagnóstico de malaria ha avanzado considerablemente en las últimas décadas. Siendo tradicionalmente, la microscopía de frotis sanguíneo el método estándar debido a su capacidad de identificar las especies de *Plasmodium* y determinar la carga parasitaria. Sin embargo, esta técnica presenta limitaciones, especialmente en áreas remotas con recursos limitados y en infecciones de baja densidad parasitaria (3). Para abordar estas deficiencias, se han desarrollado nuevas herramientas diagnósticas, como las pruebas rápidas de diagnóstico (RDT) y las técnicas moleculares, como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Estas innovaciones han mejorado la sensibilidad y especificidad del diagnóstico de malaria, facilitando la detección incluso en casos asintomáticos y de baja parasitemia (4).

En América Latina, la carga de malaria ha disminuido significativamente gracias a los esfuerzos de control, pero la enfermedad persiste en países como Venezuela, Brasil, Perú y Ecuador, en estas áreas, *P. vivax* es la especie predominante, y la persistencia de brotes es un desafío importante para la salud pública (5). Para resolver esta problemática, estos gobiernos han adoptado varias de las tecnologías de diagnóstico avanzado mencionadas anteriormente, aunque el acceso desigual y las limitaciones en infraestructura y formación técnica han impedido una implementación uniforme (6).

En las últimas décadas, en Ecuador ha experimentado una notable disminución de los casos, pasando de ser un país con alta transmisión a uno con brotes focalizados en zonas específicas, como la región costera y la Amazonía en razón a los esfuerzos sostenidos para reducir la incidencia de la malaria (7). Sin embargo, la reaparición de casos en ciertas áreas subraya la importancia de fortalecer las capacidades diagnósticas,



Esta obra está bajo una licencia Creative Commons de tipo (CC-BY-NC-SA).

Sociedad Ecuatoriana de Investigación Científica. E-mail: [revistabiosana@gmail.com](mailto:revistabiosana@gmail.com)



especialmente en las zonas rurales. Los avances tecnológicos, como la expansión de pruebas rápidas y la implementación gradual de técnicas moleculares, son fundamentales para la detección oportuna y el manejo eficaz de la malaria en el país (8).

El presente artículo señala los avances en las técnicas para el diagnóstico de malaria causada por *Plasmodium spp*, comenzando con una visión global, luego centrando la atención en América Latina, y finalmente profundizando en el contexto de Ecuador. La evaluación de estos avances es crucial para entender cómo pueden mejorar los esfuerzos de control y contribuir a la erradicación de la malaria.

## Materiales y métodos

El presente estudio es una revisión narrativa y descriptiva donde se desarrolló una exploración bibliográfica, en el que se pudo realizar una búsqueda exhaustiva la misma que recopila y analiza información de *Plasmodium spp*, enfocada en nuevas técnicas de diagnóstico. La investigación se realizará en documentos, libros, artículos originales y anexados de base de datos empleando un estudio observacional, no experimental a través del método prisma para la selección de información.

### Criterios de inclusión

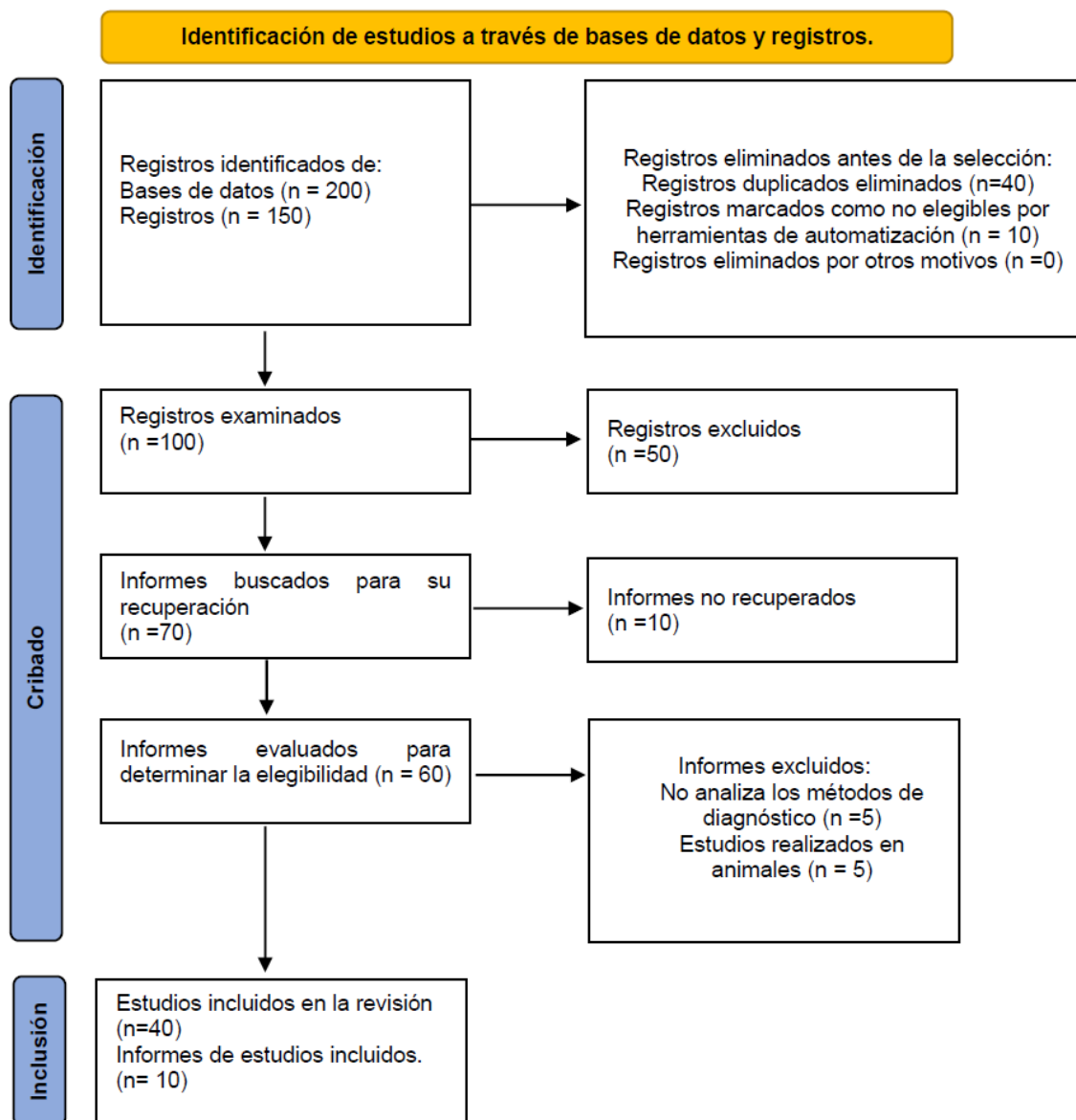
- Límite de tiempo de estudio: se seleccionó investigaciones realizadas entre los años 2019-2024.
- Las investigaciones seleccionadas serán de idioma inglés y español.
- Los estudios clínicos ensayos originales y sistemáticos donde tenga relación al diagnóstico de *Plasmodium spp*.

### Criterios de exclusión

- No se escogieron artículos que no se encuentran en el límite de tiempo establecido, que no brinden información adecuada sobre las técnicas de diagnóstico de *Plasmodium spp*, y que no se encuentren con la información completa o sean repeticiones.

Se realizó una búsqueda en base de datos como: como: o Google Académico, PubMed, Elsevier, Scielo Redalyc, Scopus, Science Direct, Springer y en la biblioteca virtual de la Universidad Técnica de Ambato (UTA). Donde se establecieron palabras clave relacionadas al tema a investigar como: “*Plasmodium*”, “métodos de diagnóstico”, “malaria”. Estos términos se buscaron como terminología sola o en conjunto.





**Figura 1.** Diagrama de flujo PRISMA resultado de la recuperación de estudios.

## Resultados y discusión

El paludismo o malaria es una enfermedad generada inicialmente por la picadura del mosquito *Anopheles* hembra en la dermis en forma de esporozoito, el mismo que ingresa e infecta a los hepatocitos donde presenta lisis durante 2 a 10 días y el huésped es asintomático luego continua el ciclo asexual en la sangre generando una división celular causando una destrucción de la membrana eritrocitaria y así la liberación de parásitos para acceder a nuevos huéspedes celulares.





En el presente artículo se realizó una revisión bibliográfica de nuevas técnicas utilizadas para el diagnóstico de malaria en distintos países de los continentes donde la presencia de esta enfermedad es frecuente, con el siguiente detalle:

**Tabla 1.** Estudios recuperados en el proceso de revisión

| Especie de <i>Plasmodium</i>       | Tema y Fuente                                                                                                                                            | Año de publicación y país | Sensibilidad y especificidad                                                                                                                                                                                                                                      | Métodos de diagnóstico realizados                                                                         |
|------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <i>P. vivax</i>                    | Droplet digital polymerase chain reaction (ddPCR) for the detection of <i>Plasmodium knowlesi</i> and <i>Plasmodium vivax</i> (9).                       | 2020<br>Malasia           | Sensibilidad:<br>(80%) (32 de 40 muestras positivas)<br><br>Especificidad:<br>(87.84%) (65 de 74 muestras negativas)                                                                                                                                              | - Droplet Digital PCR: (PCR anidada y PCR cuantitativa en tiempo real)                                    |
|                                    | Acelerando la eliminación de <i>P. vivax</i> con una nueva estrategia de prueba y tratamiento serológico: un estudio de caso de modelado en Brasil (10). | 2023<br>Brasil            | <b>LAMP para <i>P. vivax</i>:</b><br>• Sensibilidad: 100%<br>• Especificidad: 100%<br><b>LAMP para <i>P. ovale</i>:</b><br>• Sensibilidad: 98.28%<br>• Especificidad: 100%                                                                                        | - <i>Pv</i> SeroTAT                                                                                       |
| <i>P. vivax</i><br><i>P. ovale</i> | Ensayos de amplificación isotérmica mediada por bucle (LAMP) dirigidos a genes de ARN ribosómico 18S para identificar especies a las dos especies (11).  | 2021<br>China             | Sensibilidad:<br>(98,48 – 100%)<br><br>Especificidad:<br>(90,75 – 100%)                                                                                                                                                                                           | - Amplificación isotérmica mediada por asa (LAMP)<br>- PCR anidada                                        |
| <i>Plasmodium falciparum</i>       | Un nuevo ensayo de flujo lateral para la detección del lactato deshidrogenasa de <i>Plasmodium falciparum</i> en Busia, Uganda (12).                     | 2022<br>Busia, Uganda     | <b>Prototipo pLDH, LDH TL</b><br>Sensibilidad: 59%<br>Especificidad: 99%<br><br><b>SD Bioline malaria Ag Pf (HRP-2/pLDH)</b><br>Sensibilidad: 34%<br>Especificidad: 98%<br><br><b>CareStart™ malaria Pf Ag (HRP-2)</b><br>Sensibilidad: 73%<br>Especificidad: 93% | - Prototipo pLDH, LDH TL<br>- SD Bioline malaria Ag Pf (HRP-2/pLDH)<br>- CareStart™ malaria Pf Ag (HRP-2) |
| <i>P. falciparum</i>               | OPD(Online <i>Plasmodium</i> Diagnosis): un ensayo funcional basado en ALA-PpIX para predecir la malaria activa (13).                                    | 2021<br>EEUU              | La sensibilidad y especificidad de esta prueba fue muy alta                                                                                                                                                                                                       | Incubación con ácido delta-aminolevulinico (ALA)                                                          |




Avances en las técnicas para el diagnóstico de malaria por *Plasmodium spp*

|                                                      |                                                                                                                                                                          |                                                       |                                                                                                                                                                                                        | Lectura en microscopio de fluorescencia                                                   |
|------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------|
| <i>P. malarie</i>                                    | Detección de <i>P. malarie</i> mediante un nuevo ensayo de flujo lateral de amplificación isotérmica rápida (14).                                                        | 2024                                                  | Utilizando ADN plasmídico ARNr 18 se demuestra una especificidad analítica del 100%<br>La prueba qPCR las pruebas en muestras de campo mostraron una sensibilidad del 95% y una especificidad del 88%. | Amplificación rápida e isotérmica de la polimerasa recombinada (RPA)                      |
|                                                      | Una nueva PCR en tiempo real con cebadores específicos de especie del gen del citocromo <i>b</i> mitocondrial de <i>Plasmodium malarie</i> / <i>P. brasilianum</i> (15). | 2020                                                  | La especificidad fue del 100%                                                                                                                                                                          | - PCR en tiempo real                                                                      |
| <i>Plasmodium malarie</i><br><i>Plasmodium ovale</i> | Desarrollo de ensayos de PCR en tiempo real basados en cebadores cooperativos para la detección de <i>Plasmodium malarie</i> y <i>Plasmodium ovale</i> (16).             | 2021                                                  | Las pruebas realizadas fueron altamente sensibles y específicas                                                                                                                                        | - Pruebas de diagnóstico rápido<br>- Pruebas de amplificación basadas en ácidos nucleicos |
| <i>Plasmodium ovale</i>                              | Desarrollo de nuevos ensayos de PCR en tiempo real para la detección y diferenciación de especies de <i>Plasmodium ovale</i> (17).                                       | 2024<br>Tanzania y la República Democrática del Congo | Sensibilidad 98%<br>Especificidad 100%                                                                                                                                                                 | - Ensayos singleplex<br>- Ensayos de dúplex                                               |
| <i>Plasmodium spp</i>                                | Un nuevo ensayo de fusión hexaplex sensible de alta resolución para la identificación de cinco especies humanas de <i>Plasmodium</i> más control interno (18).           | 2020                                                  | Sensibilidad: 91,76 %<br>Especificidad: 98,04 %.                                                                                                                                                       | - Ensayo PCR-HRM hexaplex                                                                 |
|                                                      | Detección rápida de malaria basada en amplificación mediada por horquilla y detección de flujo lateral (19).                                                             | 2023<br>China                                         | Sensibilidad: 97,4%<br>Especificidad: 95,0%                                                                                                                                                            | - PCR en tiempo real                                                                      |





En el estudio realizado en 2020 en Malasia donde a través de reacción en cadena de la polimerasa digital en gotas (ddPCR) se pudo realizar la detección de *Plasmodium knowlesi* y *Plasmodium vivax* donde este ensayo permite la amplificación y cuantificación de ADN de manera más precisa que las técnicas tradicionales como la PCR en tiempo real (qPCR). A diferencia de la qPCR, que requiere una curva estándar para cuantificar el ADN, el ddPCR divide la muestra en miles de pequeñas gotas, lo que permite contar directamente el número de copias del ADN objetivo en cada gota. Siendo este estudio de relevancia ya que pretendió demostrar la eficacia en el diagnóstico de estos dos géneros de *Plasmodium* demostrando que en comparación a las otras técnicas es menos sensible a las técnicas usadas comúnmente como PCR en tiempo real y con una baja especificidad siendo este un factor en contra ya que esta particularidad puede causar falsos positivos en este ensayo (9).

En el año 2021 a través de ensayos de amplificación isotérmica mediada por bucle (LAMP) dirigidos a genes de ARN ribosómico 18S se diseñó la identificación de *Plasmodium vivax* y *ovale*, siendo estas las especies que presentan mayor recaídas en personas infectadas donde se comparó la sensibilidad de este estudio con PCR anidada con concentraciones de plásmidos definidas que contenían diluciones derivadas de trabajadores chinos infectados en la frontera de África, donde que requiere ciclos de calentamiento y enfriamiento y se lleva a cabo a una temperatura constante (generalmente entre 60-65 °C). Esto simplifica el equipo necesario, ya que solo se requiere un baño de agua o un termociclador, también utiliza un conjunto de cuatro a seis primers que se dirigen a diferentes regiones del objetivo de ADN. Esto permite una amplificación más eficiente y específica pudiendo generar millones de copias de ADN en menos de una hora, demostrando que los ensayos LAMP son de mucha ayuda para el diagnóstico rápido y que presentan una alta sensibilidad para detección de *Plasmodium* en menos tiempo que los métodos tradicionales (10).

En Brasil un nuevo estudio basado en un modelo matemático busca la eliminación de *Plasmodium vivax* a través de pruebas serológicas de diagnóstico denominadas PvSeroTAT, combinando pruebas serológicas y tratamientos para erradicar esta patología en zonas de alta transmisión en este país. PvSeroTAT es un enfoque de intervención que combina pruebas serológicas y tratamiento para combatir la malaria por *P. vivax*. Este método identifica a individuos asintomáticos que portan el parásito, permitiendo su tratamiento y reduciendo así la transmisión en la comunidad. Se ha demostrado que requiere significativamente menos recursos, como tratamientos radicales y pruebas de diagnóstico, lo que lo convierte en una opción más sostenible y efectiva en diversas configuraciones de transmisión. El estudio también discute la importancia de optimizar las estrategias de implementación, incluyendo la selección de sitios, el momento y el número de rondas de intervención, para maximizar el impacto en la eliminación de la malaria (11).

En Busia, Uganda se evaluó un prototipo de prueba de diagnóstico rápido que detecta la lactato deshidrogenasa (pLDH) en el parásito *Plasmodium falciparum* en muestras de sangre, con un volumen de 5 mL de sangre entera y 75 mL de buffer, y un tiempo de lectura de 20 minutos y se comparó con las PCR que se encuentran disponibles en los centros de salud de esta ciudad utilizando la PCR cuantitativa como estándar teniendo una alta sensibilidad y especificidad para infecciones causadas por menos de 100 parásitos/ul en comparación con las pruebas de diagnóstico rápido en base a la proteína 2 rica en histidina (HRP-2) demostrando que este prototipo de prueba puede ser una alternativa viable para el diagnóstico de malaria a través de pruebas de diagnóstico rápido (12).





En diciembre del 2021 en EE. UU. Se incubaron con ácido delta-aminolevulinico (ALA) parásitos de *Plasmodium falciparum* durante 7 horas donde se obtuvieron imágenes que se detectaron fluorescencia de la oritoporfirina IX con un microscopio confocal lo que se estimó la fluorescencia mediante fluorimetría. Se incubaron glóbulos rojos infectados con ALA durante 5-7 horas, siendo este ácido un precursor en la biosíntesis de hemo que puede penetrar en los glóbulos rojos infectados. Se utilizó un control negativo (succinil acetona, SA) para inhibir la síntesis de la fluorescencia de la protoporfirina IX (PpIX). La fluorescencia se observó en los glóbulos rojos infectados por *P. falciparum* mostrando picos de fluorescencia en los glóbulos rojos infectados, pero no en los no infectados, lo que indica que ALA fue absorbido específicamente por las células infectadas, confirmando la eficacia del método para detectar malaria activa; demostrando que este primer ensayo para detectar y diagnosticar la malaria en forma activa dio como resultados positivos (13).

Ya que la presencia de *Plasmodium falciparum* está cada vez menos presente se ha comprobado que la presencia de *P. malarie* y *P. ovale* ha aumentado y en base a esta realidad se realizó un estudio que desarrollo ensayos de PCR en tiempo real basados en SYBR Green para la detección de *P. malarie* y *P. ovale* demostrando que la presencia de esta parasitemia está dos veces mayor en los participantes siendo este ensayo de mayor costo que los tradicionales gracias al costo de los cebadores cooperativos. La prueba consistió en un ciclo inicial de 3 minutos a 95°C, seguido de 45 ciclos de 15 segundos a 95°C, 40 segundos a 50°C y 40 segundos a 60°C, en la implementación de esta técnica no solo sería útil para un mejor diagnóstico de la enfermedad, sino que sería una prueba específica para especies de *Plasmodium* como el *malarie* y *ovale* (16).

El ensayo de diagnóstico de *Plasmodium malarie* utilizo la amplificación rápida e isotérmica de la polimerasa recombinada (RPA) con utilización de sondas y cebadores con secuencias genómicas de este parásito dirigido al gen ARNr 18S siendo visualizado por tiras laterales (amplicón biotinilado marcado con FAM detectado por un inmunoensayo tipo sándwich, visualizado utilizando nanopartículas de oro) donde la sensibilidad se evaluó usando el ADN plásmido del gen, teniendo como un gran potencial para el uso en un futuro en el campo del diagnóstico para este tipo de género de *Plasmodium* ya que este proporciona una lectura rápida sin necesidad del uso de equipos de laboratorio costosos (14).

Para la detección de *Plasmodium malarie* que afecta a la amazonia endémica de Brasil se realizó una PCR en tiempo real de *Plasmodium malarie* y *brasilianum* dirigida a la citocromo *b* oxidasa (CYTB) donde después de analizar las muestras de esta población se pudo determinar que esta prueba no solo tuvo como resultados positivos en muestras con presencia de este parásito sino que también en cuatro muestras sospechosas de malaria y siendo altamente sensible donde se puede identificar parasitemia realmente bajas y siendo específico para *Plasmodium malarie* de forma submicroscópica ya que este género está muy presente después del *P. vivax* y *falciparum* (15).

En el año 2024 en Tanzania y la República Democrática del Congo se realizaron nuevos ensayos de PCR en tiempo real para la diferenciación de *Plasmodium ovale* el mismo que se basa en mejorar la detección donde se permiten identificar de manera clara esta especie evaluando los ensayos singleplex y dúplex La prueba consiste en un ensayo de PCR en tiempo real diseñado para detectar y diferenciar dos especies de *Plasmodium* donde se utiliza primers y sondas específicos para amplificar el ADN de los parásitos a partir de muestras de sangre, con condiciones de termociclado óptimas que permiten la detección en menos de dos horas. La sensibilidad analítica se evaluó mediante diluciones de ADN plasmídico, logrando límites de detección de 3.6





y 25.9 genomas de parásitos por microlitro para cada especie, respectivamente. Pero no detectando de manera confiable las infecciones de baja densidad en ninguno de los dos ensayos este estudio con su análisis espera que estas pruebas sean más susceptibles de secuenciación de la próxima generación posterior (17).

En 2020 se realizó un estudio donde se obtuvo un ensayo de fusión de alta resolución multiplex (PCR-HRM hexaplex) con las cinco especies del género de *Plasmodium* siendo este útil para detección y diferenciación de estas especies que afectan al ser humano enfocado en el ADN mitocondrial donde los cebadores se diseñaron recientemente en base a 113 secuencias de nucleótidos del 18S rRNA y los genes del citocromo b en una mezcla artificial. Se diseñaron cebadores específicos para las secuencias de ADN de las especies de *Plasmodium*, la amplificación del ADN se realizó en un termociclador en presencia de un colorante que permite la detección de ADN de doble cadena y se pudo registrar los cambios en la fluorescencia a medida que se incrementaba la temperatura, generando curvas de fusión que permiten identificar las especies basándose en sus temperaturas de fusión ( $T_m$ ) específicas, siendo este un ensayo de un solo paso sin ningún paso de anidación donde se podrá reducir los riesgos de contaminación cruzada y así una opción para detección de malaria con un enfoque simple, específico y principalmente de bajo costo según la investigación realizada (18).

En china se utilizó una población de 78 muestras sanguíneas para la detección de *Plasmodium* a través de la amplificación mediana por horquilla y la detección de flujo lateral siendo específicas para la detección de ácidos nucleicos de *Plasmodium* basada en inmunocromatografía de oro coloidal donde se pueden observar en tiras de ácidos nucleicos el parásito causante de la malaria, siendo este un método de diagnóstico rápido para detectar secuencias de ADN específicas. Utiliza un sistema de amplificación isoterma que genera productos de amplificación etiquetados con biotina y FITC, que luego se detectan en una tira de flujo lateral. Este método es adecuado para pruebas en puntos de entrada y salida, especialmente en áreas con recursos limitados. Se presenta características donde no se requiere personal profesional para su realización y en poco tiempo, sin embargo, el número de muestras positivas fueron bajas las misma que no permitieron reflejar el efecto de la técnica para la detección de malaria (19).

## Conclusiones

La presente revisión bibliográfica evidencia cómo los avances en técnicas de diagnóstico de malaria contribuyen significativamente a una detección más precisa y oportuna, especialmente en áreas endémicas y en contextos con recursos limitados. Estos avances en el diagnóstico de malaria han permitido desarrollar métodos específicos para la identificación de las distintas especies de *Plasmodium*. Para *Plasmodium falciparum*, las pruebas ultrasensibles (uRDT), aunque con limitaciones en casos de baja densidad parasitaria. La detección de *Plasmodium vivax* y *P. ovale* se ha optimizado con ensayos LAMP dirigidos al gen ARN ribosómico 18S, que ofrecen rapidez y alta sensibilidad. Por su parte, *P. malariae* puede ser identificado con PCR en tiempo real basada en el citocromo b oxidasa o mediante amplificación isotérmica de polimerasa recombinante (RPA), siendo esta última adecuada para áreas con recursos limitados. En el caso de *Plasmodium knowlesi*, la ddPCR destaca por su precisión en la cuantificación. Adicionalmente, el PCR-HRM hexaplex permite una detección simultánea de las cinco especies humanas de *Plasmodium*, combinando eficacia y bajo costo. Estos avances subrayan la importancia de seleccionar técnicas diagnósticas adaptadas a





las necesidades epidemiológicas, lo que resulta crucial para fortalecer las estrategias de control y eliminación de la malaria en regiones endémicas.

## Referencias

1. Wahab A, Shaukat A, Ali Q, Hussain M, Khan TA, Khan MAU, et al. A novel metabarcoded 18S ribosomal DNA sequencing tool for the detection of *Plasmodium* species in malaria positive patients. *Infection, Genetics and Evolution*. 2020;82:104305.
2. Mace KE. Malaria surveillance—United States, 2017. *MMWR Surveillance Summaries*. 2021;70.
3. Lazrek Y, Florimond C, Volney B, Discours M, Mosnier E, Houzé S, et al. Molecular detection of human *Plasmodium* species using a multiplex real time PCR. *Scientific Reports*. 2023;13(1):11388.
4. Brilhante-da-Silva N, do Nascimento Martinez L, de Oliveira Sousa RM, dos Santos Pereira S, Teles CBG. Innovations in *Plasmodium spp.* diagnosis on diverse detection platforms. *3 Biotech*. 2021;11:1-11.
5. Morales DO, Quinatoa PA, Cagua JC. Characterization of an outbreak of malaria in a non-endemic zone on the coastal region of Ecuador. *Biomédica*. 2021;41:100-12.
6. Fikadu M, Ashenafi E. Malaria: an overview. *Infection and Drug Resistance*. 2023;3339-47.
7. Villasis E, Garcia Castillo SS, Guzman M, Torres J, Gomez J, Garro K, et al. Epidemiological characteristics of *P. vivax* asymptomatic infections in the Peruvian Amazon. *Frontiers in cellular and infection microbiology*. 2022;12:901423.
8. Mendoza NM, Díaz CE, Wong YY, Echeverría AE, Gualle DG, Delgado RH, et al. Quality evaluation of malaria diagnosis in the local laboratories network and in intermediate laboratories in a setting towards the disease elimination in Ecuador. *Biomédica*. 2019;39:101-16.
9. Mahendran P, Liew JWK, Amir A, Ching X-T, Lau Y-L. Droplet digital polymerase chain reaction (ddPCR) for the detection of *Plasmodium knowlesi* and *Plasmodium vivax*. *Malaria Journal*. 2020;19:1-10.
10. Chen X, Zhang J, Pan M, Qin Y, Zhao H, Qin P, et al. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assays targeting 18S ribosomal RNA genes for identifying *P. vivax* and *P. ovale* species and mitochondrial DNA for detecting the genus *Plasmodium*. *Parasites & vectors*. 2021;14(1):278.
11. Nekkab N, Obadia T, Monteiro WM, Lacerda MV, White M, Mueller I. Accelerating towards *P. vivax* elimination with a novel serological test-and-treat strategy: a modelling case study in Brazil. *The Lancet Regional Health—Americas*. 2023;22.
12. Bachman CM, Cate DM, Grant B, Burkot S, Mulondo J, Hsieh HV, et al. A novel malaria lateral flow assay for detecting *Plasmodium falciparum* lactate dehydrogenase in Busia, Uganda. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 2022;106(3):850.
13. Ashraf S, Agyapong J, Rohrbach P, Hasan T. OPD (Online *Plasmodium* Diagnosis): An ALA-PpIX based functional assay to predict active malaria. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*. 2021;36:102510.





14. Assefa A, Wamae K, Hennelly CM, Ngasala B, Muller M, Kalonji A, et al. Detection of *P. malariae* using a new rapid isothermal amplification lateral flow assay. *Malaria Journal*. 2024;23(1):104.
15. Dos Santos EH, Yamamoto L, Domingues W, di Santi SM, Kanunfre KA, Okay TS. A new Real Time PCR with species-specific primers from *Plasmodium malariae*/*P. brasilianum* mitochondrial cytochrome b gene. *Parasitology international*. 2020;76:102069.
16. Ansah F, Suurbaar J, Darko D, Anabire NG, Blankson SO, Domson BK, et al. Development of cooperative primer-based real-time PCR assays for the detection of *Plasmodium malariae* and *Plasmodium ovale*. *The Journal of Molecular Diagnostics*. 2021;23(10):1393-403.
17. He W, Sendor R, Potlapalli VR, Kashamuka MM, Tshetu AK, Phanzu F, et al. Development of new real-time PCR assays for detection and species differentiation of *Plasmodium ovale*. *PLoS neglected tropical diseases*. 2024;18(9):e0011759.
18. Srisutham S, Rattanakoch P, Kijprasong K, Sugaram R, Kantaratanakul N, Srinulgray T, et al. A novel sensitive hexaplex high-resolution melt assay for identification of five human *Plasmodium* species plus internal control. *Acta tropica*. 2023;248:107020.
19. Zhang Y, Ke L, Sun T, Liu Y, Wei B, Du M. Rapid Detection of Malaria Based on Hairpin-Mediated Amplification and Lateral Flow Detection. *Micromachines*. 2023;14(10):1917.

